



UNIVERSITÀ DI PISA

DIPARTIMENTI DI MEDICINA CLINICA E SPERIMENTALE
PATOLOGIA CHIRURGICA, MEDICA, MOLECOLARE E DELL'AREA CRITICA
RICERCA TRASLAZIONALE E DELLE NUOVE TECNOLOGIE IN MEDICINA E CHIRURGIA

Corso di Laurea Specialistica in Medicina e Chirurgia

TESI DI LAUREA

RUOLO DELLA pH-IMPEDENZIOMETRIA NELLA DIAGNOSI DI MALATTIA DA REFLUSSO GASTROESOFAGEO

Relatore

Prof. Santino MARCHI

Tutor

Dott. Nicola DE BORTOLI

Candidata

Silvia BOCCA

Anno Accademico 2013-2014

INDICE

| | |
|---|-----------|
| DEFINIZIONE DELLA MALATTIA DA REFLUSSO GASTROESOFAGEO | 1 |
| 1. ANATOMIA | 1 |
| 2. FISIOLOGIA | 3 |
| 3. EPIDEMIOLOGIA | 4 |
| 4. FISIOPATOLOGIA | 6 |
| 5. DIAGNOSI | 11 |
| 6. TERAPIA | 19 |
| DIFFERENZE TRA NERD E VH..... | 25 |
| 1. L'IPERSENSIBILITÀ VISCERALE (VH) | 26 |
| 2. ALTERAZIONI ESOFAGEE FUNZIONALI: LA PIROSI FUNZIONALE (FH) | 32 |
| STUDIO CLINICO..... | 36 |
| 1. BACKGROUND..... | 36 |
| 2. PAZIENTI E METODI | 37 |
| 3. ANALISI STATISTICA | 42 |
| 4. RISULTATI | 42 |
| 5. DISCUSSIONE | 45 |
| BIBLIOGRAFIA..... | 48 |

DEFINIZIONE DELLA MALATTIA DA REFLUSSO GASTROESOFAGEO

La malattia da reflusso gastroesofageo (MRGE) è una delle più comuni patologie del tratto gastrointestinale, definita dalla presenza di una tipica sintomatologia (pirosi retrosternale e rigurgito) e/o da danno della mucosa esofagea [1]. I pazienti che riferiscono la classica sintomatologia in assenza di danno mucoso (erosione, ulcerazione o metaplasia intestinale) rientrano in un sottogruppo della MRGE detta malattia da reflusso non erosiva (NERD) [2]. Il reflusso del contenuto gastrico in esofago è un evento fisiologico e anche le persone sane presentano normalmente reflusso; nella MRGE questi eventi sono più numerosi e più prolungati. Un episodio di reflusso è definito come una caduta del pH al di sotto di 4 della durata di 10 s o più. Un reflusso che precede l'insorgenza dei sintomi non deve necessariamente raggiungere valori inferiori a 4; è stato dimostrato che brevi cadute del pH di più di un'unità, ma non sotto 4, sono comunque in grado di evocare i sintomi tipici.

1. Anatomia

L'esofago rappresenta il tratto del tubo digerente compreso tra la faringe e lo stomaco, di forma tubulare e lungo circa 25 cm. Esso si continua con lo stomaco attraverso la giunzione esofagogastrica; è proprio a livello di tale

regione che si trova una struttura anti-reflusso, il cui mal funzionamento conduce alla MRGE. Questa struttura è costituita dallo sfintere esofageo inferiore (LES), dal pilastro destro del diaframma e dalla *flap valve* [2].

Il LES è un segmento di 3-4 cm dello strato circolare interno di muscolatura liscia della parte distale dell'esofago che è tonicamente contratto; la pressione a riposo varia da 10 mmHg a 35 mmHg, anche in base al grado di ripienezza dello stomaco, all'attività fisica, al sonno [3]. La porzione di diaframma che avvolge l'esofago forma una sorta di fascia che funge da sfintere estrinseco, il quale aumenta la pressione intorno al LES. Se queste due strutture non combaciano, come nel caso dell'ernia iatale, può insorgere la MRGE. La *flap valve* è presente in tutti i soggetti sani e ha la funzione di mantenere la porzione distale dello sfintere esofageo inferiore all'interno dell'addome e di mantenere l'angolo di His (angolo acuto tra l'esofago e l'ingresso dello stomaco).

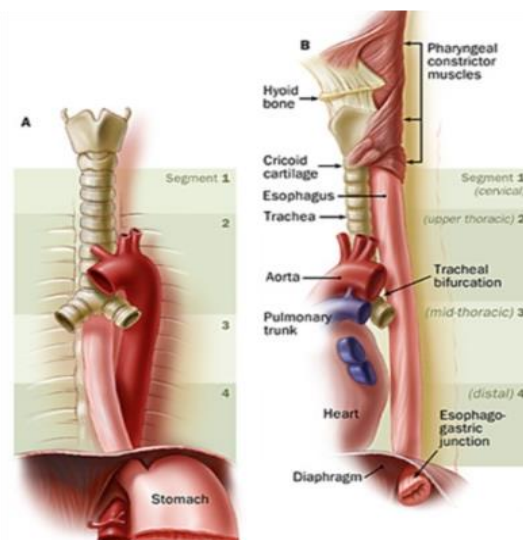


Figura 1 Anatomia dell'esofago

2. Fisiologia

L'esofago ha la funzione di trasportare il bolo dalla faringe allo stomaco. Nel terzo superiore la muscolatura è striata ed è controllata da efferenze somato-motorie, mentre la muscolatura liscia del tratto inferiore è dotata di innervazione vegetativa, rappresentata prevalentemente dal nervo vago. L'onda peristaltica interessa un'area di contrazione della lunghezza di 2-4 cm, che avanza verso il basso con una velocità di 2-4 cm/s e dopo circa 9 s raggiunge il LES. La velocità di passaggio dipende essenzialmente dalla consistenza del bolo e dalla posizione del corpo. La pressione dell'onda peristaltica cresce verso l'estremità distale e raggiunge 30-120 mmHg nell'esofago inferiore. Il LES si apre per 5-8 s in modo da permettere l'ingresso del bolo nello stomaco, poi si richiude assumendo nuovamente il suo tono basale. Tale azione di rilasciamento del LES avviene per via riflessa ad opera del nervo vago. I neurotrasmettitori probabilmente implicati sono l'ossido nitrico (NO) o il peptide intestinale vasoattivo (VIP). Anche gli ormoni e i peptidi gastrointestinali possono influenzare il tono del LES: la gastrina, la motilina e la sostanza P lo aumentano, mentre la colecistochinina (CCK), il glucagone, il GIP, il VIP e il progesterone lo riducono [4].

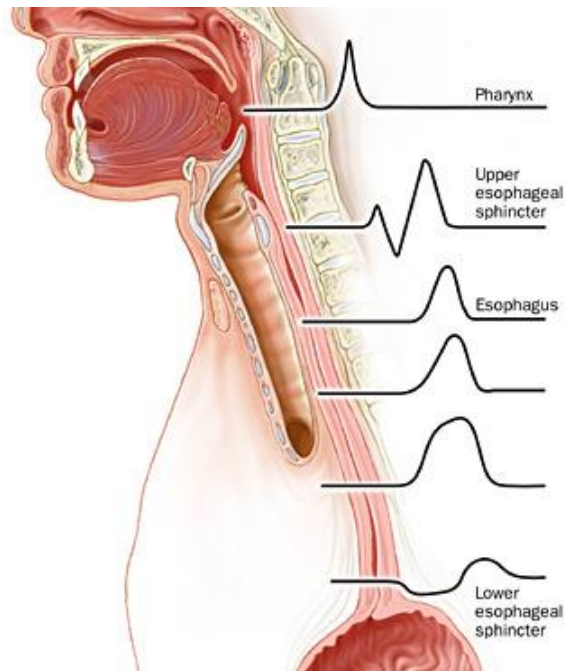


Figura 2 Esempio di onda peristaltica esofagea

3. Epidemiologia

La difficoltà nel definire l'epidemiologia della MRGE è dovuta principalmente alla mancanza di una definizione globalmente accettata della patologia.

Una recente autorevole rassegna sistematica propone la seguente definizione di MRGE, che verrà utilizzata quale riferimento nel presente lavoro.

La MRGE è definita come un “disturbo in grado di alterare la qualità della vita, caratterizzato dalla presenza di sintomi quali pirosi retrosternale e/o rigurgiti acidi che ricorrono almeno settimanalmente” [5].

Si osservano variazioni nella prevalenza della MRGE a livello mondiale.



Figura 3 Variazione globale nella prevalenza della malattia da reflusso gastro-esofageo, definita come bruciore retrosternale e/o rigurgito acido con frequenza almeno settimanale

La prevalenza nel mondo occidentale è stata stimata attorno al 10-20%; i valori rilevati in Nord America sono più elevati rispetto a quelli europei, mentre in Europa il tasso è maggiore nei paesi settentrionali. In Asia la prevalenza è nettamente inferiore, non raggiungendo il 5%. Va notato che l'elevata prevalenza osservata negli Stati Uniti potrebbe essere messa in relazione con il rapido incremento della prevalenza dell'obesità. Peraltro, la relativamente bassa prevalenza in Asia potrebbe non essere confermata a fronte dei rapidi cambiamenti di dieta e stile di vita delle popolazioni.

I dati riguardanti l'incidenza sono scarsi e riguardano soprattutto il mondo occidentale. Essa è bassa rispetto alla prevalenza (approssimativamente 5 per 1000 abitanti/anno) in quanto si tratta di una malattia cronica.

Numerosi studi trasversali e longitudinali hanno evidenziato potenziali fattori di rischio per la MRGE:

1. fattori genetici - storia familiare di MRGE e sintomi di MRGE in parenti di primo grado [6];
2. fattori demografici - gravidanza (in generale non c'è associazione tra sesso e MRGE), età [7; 8], elevato BMI [6; 7; 8; 9];
3. fattori comportamentali - fumo di sigaretta [6; 7; 8], alcol, farmaci (anticolinergici, FANS, nitrati e steroidi).

4. Fisiopatologia

I sintomi principali della MRGE sono la piroisi, definita come un dolore urente retrosternale della durata di qualche minuto, e il rigurgito, rappresentato dall'arrivo del contenuto gastrico in bocca non preceduto da nausea né da conati di vomito [2]. Tali sintomi si presentano principalmente durante il giorno, in particolar modo nell'ora successiva ai pasti principali. Alcuni pazienti riferiscono la sintomatologia anche durante la notte: in questo caso essa si associa ad un più grave danno della mucosa ed eventualmente ad esofago di Barret [10]. Va rimarcato che

alcuni pazienti che lamentano bruciore retrosternale non hanno la MRGE, ma sono affetti da una sindrome chiamata pirosi funzionale [11].

La malattia da reflusso gastro-esofageo è peraltro responsabile dell'insorgenza di segni e sintomi secondari, i più frequenti dei quali sono tosse, bruciore alla gola e asma. Si possono inoltre avere: dolore addominale, disfagia e dispepsia; angina e dolore toracico; laringiti, otiti e sinusiti; sensazione di nodo alla gola; ansia e depressione.

Numerosi sono i meccanismi fisiopatologici implicati nella MRGE:

1. disfunzione della peristalsi esofagea - la clearance dell'acido inizia con la peristalsi, la quale svuota l'esofago dai fluidi refluiti dallo stomaco (questo meccanismo è potenziato dal passaggio della saliva, che ripulisce ulteriormente la mucosa dall'acido e ha azione protettiva);
2. ritardato svuotamento gastrico - la relazione tra il ritardato svuotamento gastrico e la MRGE è stata dimostrata solo per un rallentato svuotamento prossimale (e non distale o totale); il rilascio post-prandiale dello stomaco prossimale è aumentato o prolungato nella MRGE e questo è dovuto ad un'anormale permanenza del cibo in questa porzione di stomaco [12];
3. aumentata pressione intragastrica - affinché si manifesti il reflusso, la pressione dello stomaco prossimale deve superare la pressione dell'esofago distale; il gradiente pressorio gastro-esofageo è temporaneamente aumentato durante attività che

portano ad un aumento della pressione addominale, quali la tosse e gli sforzi; un incremento cronico del gradiente pressorio è presente nelle persone sovrappeso o obese e durante la gravidanza (insieme all'aumento del progesterone, che provoca un maggior rilasciamento del LES, è causa di un'aumentata incidenza di episodi di pirosi e rigurgito in questo periodo);

4. tasca acida - molti cibi hanno un effetto protettivo che porta ad una riduzione dell'acidità dello stomaco nella fase post-prandiale. Tuttavia, il monitoraggio del pH utilizzando uno strumento di pH-metria ad alta risoluzione, non disponibile nella pratica clinica, con sensori di pH ogni 2 cm, ha evidenziato un aumento del reflusso acido proprio in questa fase. Dopo i pasti, uno strato di succo gastrico senza un margine definito permane sopra i cibi, a stretto contatto con il cardias, pronto a refluire nell'esofago [13]: questo fenomeno, facilitato dall'assenza di contrazioni peristaltiche nello stomaco prossimale, è conosciuto come tasca acida [14]. Nei pazienti affetti da MRGE la tasca acida si trova più in alto (rispetto alla giunzione squamo-colonnare) rispetto ai soggetti sani, potendo addirittura portarsi al di sopra del LES [15];
5. ernia iatale - l'ernia iatale è la fuoriuscita di una porzione dello stomaco in cavità toracica attraverso lo iato esofageo del diaframma; la forma più frequente è quella da scivolamento (95%), in cui lo stomaco risale in cavità toracica insieme all'ultima porzione dell'esofago; più rare sono le ernie paraesofagee, in cui il

fondo dello stomaco scivola lungo l'ultima porzione dell'esofago, che resta fisso nella sua sede, e sporge nel torace rivestito dal sacco erniario;

6. *Helicobacter pylori* - non ha un ruolo di rilievo nella patogenesi della MRGE;

7. fisiologici rilasciamenti transitori dello sfintere esofageo inferiore (TLOSRS) - rappresentano il più comune meccanismo di insorgenza della MRGE [2; 16]. Essi sono indipendenti dall'ingestione di saliva, acqua o cibo e sono mediati da un riflesso vago-vagale, attivato dalla distensione gastrica; questo meccanismo protettivo permette la fuoriuscita di gas dallo stomaco (eruttazione), prevenendone un accumulo eccessivo e l'entrata nel duodeno. Tuttavia, durante questo processo, insieme all'aria possono passare in esofago anche secrezioni acide e altro materiale contenuto nello stomaco. La durata media dei TLOSRS, i quali avvengono circa 3-6 volte/ora, è di circa 20 s (da 5 a 30 s), molto maggiore rispetto ai rilasciamenti indotti dall'ingestione di saliva, acqua o cibo. La regione sub-cardiale è la zona più sensibile alla distensione ed è per questo considerata la principale responsabile nell'attivazione dei rilasciamenti esofagei. I meccanismi coinvolti sono:

- il rilasciamento del LES ad opera dell'attivazione di neuroni inibitori del plesso mienterico da parte del nervo vago [17],

- l'inibizione della contrazione del muscolo diaframma [17; 18; 19],
- la soppressione della peristalsi esofagea [17; 20],
- la contrazione della porzione distale dello strato esterno di muscolatura liscia esofagea, che porta ad un accorciamento dell'esofago [21; 22; 23; 24].

I fattori che contribuiscono all'aumento della frequenza dei TLOSRS sono: il periodo post-prandiale (anche se la maggior parte dei TLOSRS associati a reflusso acido non è correlata al volume dello stomaco prossimale), la posizione sdraiata sul lato destro, lo stato di veglia. I pazienti affetti da MRGE non necessariamente presentano un numero maggiore di TLOSRS rispetto ai soggetti sani (nei pazienti con malattia da reflusso è presente una percentuale maggiore di TLOSRS associati a reflusso gastro-esofageo); piuttosto essi presentano alterazioni strutturali e instabilità della giunzione gastro-esofagea, le quali incrementano la distensibilità di questa zona e il reflusso, sia durante i TLOSRS che in loro assenza (ad es. durante aumenti pressori intraddominali) [25].

Le più gravi complicanze della MRGE sono la stenosi (dovuta al processo di guarigione delle aree di mucosa lese, caratterizzato dalla deposizione di collagene e dalla fibrosi) e l'esofago di Barret (metaplasia intestinale, nella quale cellule di tipo colonnare, con potenziale neoplastico, sostituiscono il normale epitelio squamoso).

5. Diagnosi

L'iter diagnostico nei pazienti di età inferiore a 50 anni, in assenza di sintomi d'allarme (disfagia, ematemesi, melena, anemia, vomito persistente e calo ponderale) e di familiarità per patologie neoplastiche, in cui si sospetta una MRGE, prevede come primo step il test con inibitori di pompa protonica (PPI test). Se questo risulta positivo (diminuzione significativa della sintomatologia con l'assunzione di PPI) si può formulare la diagnosi di MRGE secondo un criterio *ex adjuvantibus*. Se negativo (risposta non soddisfacente con l'assunzione di PPI), si ricorre all'endoscopia, che permette di distinguere tra malattia erosiva (ERD) e malattia non erosiva (NERD). Nel 60-70% dei casi l'endoscopia è negativa; essa deve quindi essere seguita da esami di secondo livello, quali la manometria e la pH-metria/pH-impedenziometria.

Test con inibitori di pompa protonica.

La risposta sintomatica ad un breve ciclo di trattamento con un inibitore della secrezione acida dello stomaco, oggi giorno invariabilmente un inibitore di pompa protonica (PPI), è noto come test con inibitori di pompa protonica (PPI test). Generalmente la riduzione della severità dei sintomi di circa il 50% in seguito ad un ciclo di terapia, della durata di otto settimane, con esomeprazolo (40 mg per i sintomi tipici e 40 mg×2 per i sintomi atipici, quali la tosse cronica, il globo faringeo o l'asma) è considerata un risultato positivo al test ed è indicativa di una corretta diagnosi di MRGE. Va peraltro notato che lo stesso test può risultare

positivo in altre patologie - quali l'ulcera peptica e la dispepsia funzionale - e che ci sono stati molti casi di effetto placebo; la specificità del test è quindi bassa (24-65%) e non è più elevata di quella con placebo (38-41%) [26]. Tuttavia, nella cura primaria il PPI test è ritenuto utile, in quanto la combinazione di una risposta favorevole e l'assenza di sintomi d'allarme rende non necessari ulteriori test diagnostici.

Endoscopia.

L'endoscopia di routine è necessaria in tutti i pazienti che presentano sintomi d'allarme a qualsiasi età. Essa è pertanto raccomandata oltre i 45 anni e nei casi di durata dei sintomi da oltre dieci anni. L'endoscopia è inoltre un esame fondamentale in caso di impossibilità nell'effettuare il PPI test o in caso di mancata risposta a quest'ultimo. Sarebbe opportuno procedere con l'esame endoscopico dopo la sospensione della terapia antiacida da almeno 15 giorni. Mediante questo esame è possibile fare una distinzione tra malattia erosiva (ERD), che rappresenta il 40% dei casi, e malattia non erosiva (NERD), che rappresenta il restante 60%. La severità dell'esofagite può essere suddivisa in quattro gradi (da A a D) con la classificazione di Los Angeles: nel grado A le alterazioni endoscopiche sono limitate ad una o più lesioni mucose, con un'estensione massima di 5 mm; nel grado B sono presenti una o più interruzioni della mucosa, con un'estensione massima superiore a 5 mm, ma non continue tra le pliche mucose; nel grado C le interruzioni sono continue tra due pieghe della mucosa, ma coinvolgono meno del 75% della circonferenza esofagea; nel

grado D le interruzioni mucose coinvolgono più del 75% della circonferenza esofagea. Solo in caso di NERD si ricorrerà agli esami di secondo livello, quali la manometria e la pH-metria. L'endoscopia associata a biopsie è importante per la diagnosi differenziale in quei pazienti che si presentano con sintomi d'allarme (che potrebbero sottendere patologie di tipo neoplastico).

Manometria.

Non è indicata per fare diagnosi di MRGE; questa tecnica è utilizzata soprattutto per avere informazioni sull'attività contrattile, sulla pressione e sulla lunghezza del LES. La manometria è però fondamentale per la valutazione dei pazienti candidati alla chirurgia anti-reflusso e per l'identificazione e la misurazione dei TLOSRS.

La manometria ad alta risoluzione (HRM), con un sensore di pressione ogni centimetro dalla faringe allo stomaco, è uno strumento diagnostico recente. I dati della HRM sono presentati in tempo reale come un diagramma 'spaziotemporale', che permette di visualizzare in maniera compatta e intuitiva la funzione gastro-esofagea. Questo, oltre ad aumentare la sensibilità diagnostica della disfunzione peristaltica e permettere una valutazione dettagliata dell'integrità strutturale e della funzione di barriera anti-reflusso nella MRGE, facilita anche l'estrapolazione di informazioni significative da prove fisiologiche che frequentemente scatenano il reflusso e i sintomi (ad es. il test del pasto) [25]. La manometria è considerata il gold-standard per lo studio della

motilità esofagea: durante l'esame vengono utilizzati sensori di pressione intraluminali che sono in grado di misurare la pressione del corpo esofageo e del LES sia a riposo che durante ingestioni standardizzate, fornendo informazioni sull'ampiezza e la progressione delle onde peristaltiche. Questa metodica ha però lo svantaggio di fornire informazioni limitate riguardo la qualità del bolo in transito; è per questo motivo che spesso viene associata all'impedenziometria. Numerosi studi, sia su volontari sani che su pazienti con vari disturbi e anomalie della motilità esofagea (ad es. acalasia e sclerodermia), hanno dimostrato la superiorità diagnostica dell'associazione manometria-impedenziometria rispetto alla sola manometria; le due tecniche utilizzate insieme permettono l'identificazione di anomalie funzionali dell'esofago in pazienti con disfagia non ostruttiva, nei quali la sola manometria sarebbe risultata normale o aspecifica. Questa associazione può inoltre essere utile per la diagnosi differenziale tra ruminazione e MRGE nei pazienti con predominanza di rigurgiti.

Monitoraggio ambulatoriale del pH.

La pH-metria delle 24 ore è solitamente effettuata per mezzo di un catetere trans-nasale connesso ad un datalogger. La registrazione avviene in maniera continua: ogni volta che si presenta una caduta del pH al di sotto di 4, questa viene interpretata come un episodio di reflusso [2]. Il monitoraggio del pH esofageo è solitamente effettuato dopo l'interruzione da almeno 15 giorni della terapia antiacida. L'informazione

più importante che può essere ottenuta dalla pH-metria è la presenza di una relazione temporale tra il reflusso acido e l'insorgenza dei sintomi [27]. Uno dei limiti della pH-metria delle 24 ore è che la frequenza dei sintomi varia da un giorno all'altro; questo implica che una singola misurazione potrebbe non essere rappresentativa. In alternativa può essere utilizzato un sistema wireless, nel quale una capsula radiotrasmettente, contenente un sensore per il pH, viene ancorata alla parete esofagea. I vantaggi di questa tecnica sono l'assenza del fastidio dato dal catetere trans-nasale e la possibilità di effettuare misurazioni più prolungate (anche 48 ore); tuttavia i costi elevati ne limitano l'utilizzo [28; 29]. Altro importante limite di questa tecnica diagnostica è la sua incapacità nel registrare reflussi non acidi ($\text{pH} > 4$).

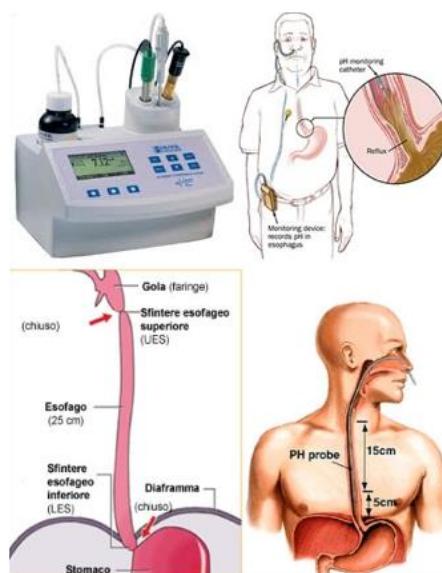


Figura 4 Esempio di pH-metria

pH-impedenziometria.

Con questa tecnica è possibile evidenziare la presenza di reflusso indipendentemente dal suo pH. Questa metodica utilizza un catetere con elettrodi disposti circolarmente, i quali misurano l'impedenza elettrica del contenuto esofageo a vari livelli lungo l'asse dell'organo. Solitamente le misurazioni del pH e dell'impedenza vengono effettuate contemporaneamente, in quanto la loro combinazione ha un maggior rendimento diagnostico.

L'impedenziometria è una tecnica relativamente nuova (introdotta nel 1991) che permette di evidenziare il flusso di liquidi e gas attraverso i visceri cavi; a livello dell'esofago fornisce quindi informazioni sul passaggio del bolo e sull'eventuale presenza di reflusso gastro-esofageo [27]. E' importante sottolineare che nel monitoraggio della MRGE è possibile misurare il reflusso indipendentemente dalla sua acidità.

L'impedenziometria misura la resistenza al flusso elettrico in un circuito a corrente alternata. Nel monitoraggio dell'impedenza esofagea un circuito a corrente alternata è generato tra due elettrodi ad anello separati da un catetere isolante. L'impedenza è inversamente proporzionale alla conduttività del mezzo che circonda i due elettrodi.

La conduttività dell'aria è infinitamente bassa: è per questo motivo che quando il mezzo è costituito da aria l'impedenza misurata è molto elevata; al contrario, la conduttività di liquidi quali soluzioni saline o succo gastrico è alta: ne consegue che l'impedenza di tali sostanze è bassa. Quando l'esofago è vuoto l'impedenza assume valori intermedi tra quelli dell'aria e

quelli dei liquidi, in quanto la conduttività della parete esofagea ha valori intermedi tra questi due. Disponendo una serie di elettrodi lungo un catetere è possibile valutare la direzione e la velocità alla quale il mezzo è trasportato attraverso l'esofago; utilizzando il monitoraggio dell'impedenza esofagea è quindi possibile determinare i movimenti di gas e liquidi attraverso l'organo. In definitiva l'impedenziometria, oltre a definire l'estensione prossimale del reflusso, identifica i movimenti del bolo e permette di precisarne la natura (liquida, gassosa o mista liquida-gassosa) indipendentemente dal suo pH. Inoltre, l'alta risoluzione temporale dell'evidenziazione del reflusso permette di studiare l'associazione tra il reflusso e l'insorgenza dei sintomi.

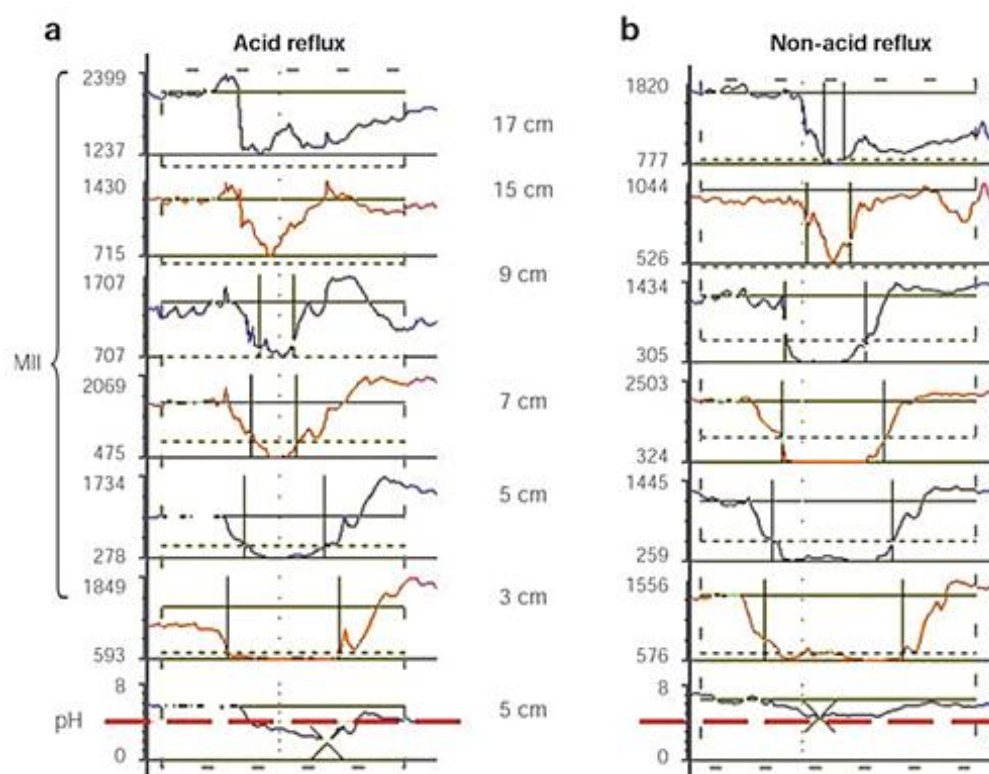


Figura 5 Esempio di pH-impedenziometria

L'impedenziometria associata alla misurazione del pH nei pazienti affetti da MRGE rappresenta una forma più completa di monitoraggio della patologia, poiché permette il riconoscimento di episodi di reflusso sia acido che non acido. Può essere fatta una distinzione tra reflusso acido ($\text{pH} < 4$), debolmente acido ($\text{pH} 4-7$) e alcalino ($\text{pH} > 7$). Per esprimere in maniera quantitativa la relazione causale tra gli eventi di reflusso e i sintomi, è stato introdotto un indice, chiamato symptom index (SI). Questo è definito come la percentuale di episodi sintomatici correlati al reflusso: $(\text{Numero di reflussi correlati a episodi sintomatici} / \text{Numero totale di episodi sintomatici}) \times 100\%$. L'SI e l'esposizione esofagea all'acido non necessariamente corrispondono. E' stato dimostrato che un numero notevole di pazienti con un SI positivo ha un'esposizione acida fisiologica. Il maggior difetto dell'SI è che esso non tiene conto del numero totale di episodi di reflusso; come conseguenza, la probabilità che l'SI diventi positivo aumenta all'aumentare del numero di episodi di reflusso. L'SI soffre inoltre dello svantaggio di non integrare tutti i fattori che determinano la relazione tra i sintomi e il reflusso. Un altro indice è il symptom association probability (SAP), un parametro che esprime la probabilità che i sintomi del paziente siano correlati al reflusso. Il SAP è calcolato dividendo i valori del pH delle 24 ore in segmenti consecutivi da due minuti ciascuno. Per ognuno di questi segmenti si determina se vi è stato reflusso, fornendo il numero totale di segmenti con (R+) e senza (R-) reflusso. Poi, per ogni episodio sintomatico, si determina se il reflusso avviene (S+R+) o no (S+R-) nel precedente periodo di due minuti. La

sottrazione di S+R+ dal totale di R+ da come risultato S-R+, mentre la sottrazione di S+R- dal totale di R- da come risultato S-R-. Viene poi creata una tabella 2x2, nella quale vengono inseriti il numero dei segmenti da due minuti con e senza sintomi e con e senza reflussi.

Per questi motivi la pH-impedenziometria è attualmente considerata la metodica gold standard per la diagnosi di MRGE.

6. Terapia

Vengono di seguito illustrati i più comuni trattamenti della MRGE.

1. Stile di vita e modificazioni dietetiche: una convinzione comune è quella che il primo passo nella gestione della MRGE debba consistere in un cambiamento dello stile di vita, compresa la dieta [2]. I consigli dietetici sono basati su osservazioni epidemiologiche che mostrano l'associazione tra i sintomi dovuti al reflusso e le abitudini alimentari. Nonostante non ci siano evidenze a riguardo, le raccomandazioni sono di avere una dieta sana e di evitare i cibi che, secondo l'esperienza del paziente, sono in grado di scatenare i sintomi. Un'importante raccomandazione è la cessazione del fumo di tabacco, anche se nessuna ricerca ha dimostrato una correlazione tra l'abolizione del fumo e una riduzione della sintomatologia. Al contrario, numerose prove indicano l'efficacia della riduzione del peso nei pazienti sovrappeso o obesi [30; 31].

2. Antiacidi e alginati: gli antiacidi (es. miscele di idrossido di alluminio e di idrossido di magnesio) sono utilizzati nella cura primaria e per l'automedicazione; sono utilizzati tipicamente al bisogno, in quanto la loro insorgenza d'azione è rapida e il loro effetto è di breve durata. Gli alginati sono polisaccaridi derivati da un'alga marina; legano l'acqua in modo da formare una soluzione viscosa, la quale galleggia nello stomaco prossimale riducendo così la tasca acida [32].
3. Inibizione acida: sebbene la patogenesi della MRGE dipenda soprattutto da un'alterazione anatomica e da un'anomala funzionalità motoria, il trattamento medico più affidabile si basa sulla riduzione della secrezione acida dello stomaco. Tale approccio non fornisce una soluzione definitiva: una volta sospeso il farmaco, la sintomatologia si ripresenta. La maggior parte degli individui con una sintomatologia lieve che si presenta una volta a settimana può essere trattata al bisogno con antiacidi. In alternativa, dosi standard di antagonisti H₂ del recettore dell'istamina (es. cimetidina e ranitidina) possono essere utilizzate al bisogno in pazienti con NERD o esofagite lieve [33]. In pazienti con sintomi di MRGE da moderati a severi o con grave esofagite erosiva, il trattamento con inibitori di pompa protonica (omeprazolo, pantoprazolo, lansoprazolo, rabeprazolo, esomeprazolo) dovrebbe essere considerato di prima linea [34]. Risultati di numerosi studi mostrano una superiorità terapeutica dei PPI sugli antagonisti-H₂

sia nella guarigione dell'esofagite sia nel mantenimento del processo di guarigione. La massima efficacia della terapia con PPI è ottenuta quando questi sono assunti, in associazione agli alginati, prima dei pasti e con strategia top down: dose massima a scalare, fino alla sospensione, per poi riprendere alla minima dose efficace in caso di recidiva sintomatologica. I pazienti non responsivi a dosi standard di PPI potrebbero beneficiare o di un incremento della dose fino al doppio di quella standard, o di una suddivisione della dose in due somministrazioni giornaliere [35; 36; 37]. Il trattamento con PPI è molto sicuro; tuttavia, nel corso degli anni, è stato evidenziato che un trattamento prolungato con antiacidi può essere correlato a: alto rischio di infezioni; aumentata tendenza a sviluppare gastrite atrofica; incremento del rischio di diarrea associata a *Clostridium difficile* [38]; maggior rischio di fratture [39]; ipomagnesemia [40]; deficienza di vitamina B12 e ferro [41]; potenziale transitorio incremento della secrezione acida dopo l'interruzione della terapia [42].

4. Trattamento endoscopico: l'uso di strumenti di sutura, graffe transmurali e staplers, nonché l'ablazione con radiofrequenze non possono ancora essere raccomandati.
5. Procedure chirurgiche: sin dalla pubblicazione della procedura di Nissen nel 1956 [43], la *funduplicatio* è diventata il gold standard per il trattamento chirurgico della MRGE. Attualmente la più comune indicazione alla chirurgia è la persistenza di fastidiosi

sintomi, in particolare il rigurgito, in pazienti con diagnosi certa di MRGE che presentano una risposta favorevole, ma incompleta, alla terapia con PPI. Un'altra frequente ragione che spinge a scegliere la terapia chirurgica è la riluttanza dei pazienti all'utilizzo a vita della terapia con PPI. La *funduplicatio* è infrequentemente fonte di complicazioni, quali metaplasia intestinale, ulcerazione o stenosi; esse si sviluppano o persistono nonostante un'adeguata soppressione acida. I risultati a cinque anni di uno studio europeo randomizzato che confronta il trattamento cronico con PPI (esomeprazolo) e la *funduplicatio* secondo Nissen, mostra che i tassi di remissione non sono diversi tra le due strategie terapeutiche. Tuttavia, a cinque anni, il rigurgito acido è più prevalente nel gruppo sottoposto a terapia orale con PPI rispetto a quello sottoposto a *funduplicatio*. Questo svantaggio della terapia conservativa è controbilanciato dall'evidenza che la disfagia, il gonfiore e la flatulenza sono più comuni nel gruppo della *funduplicatio*. La *funduplicatio* ha efficacia provata nei pazienti in cui il reflusso non acido è un'importante causa dei sintomi. Questa procedura chirurgica sicuramente comporta un rischio di mortalità, ma recenti studi dimostrano una mortalità a 30 giorni in pazienti con meno di 70 anni inferiore allo 0-0.5% [44].

La MRGE refrattaria alla terapia è una condizione nella quale le lesioni mucose o i sintomi causati dal reflusso non sono responsivi al trattamento

con alte dosi di PPI [45]. I dati di trials clinici indicano che una terapia della durata di 4-8 settimane con PPI ha un'efficacia nel curare l'esofagite erosiva variabile tra l'84% e il 95%, mentre la risposta sintomatica è compresa tra il 75% e l'85% [46; 47; 48].

Il primo passo in un paziente con sintomatologia da reflusso refrattaria alla terapia è di investigare se i sintomi siano realmente causati dal reflusso. E' possibile effettuare una verifica mediante il monitoraggio ambulatoriale del reflusso tramite pH-impedenziometria; i possibili risultati sono che i sintomi del paziente non sono correlati al reflusso, che i sintomi sono il risultato di una soppressione acida insufficiente (spesso dovuta ad una mancata aderenza alla terapia da parte del paziente), oppure che essi sono causati da reflusso non acido. Nei pazienti con sintomi da reflusso refrattari alla terapia con PPI dovrebbe essere presa in considerazione una diagnosi di dispepsia funzionale; in quelli con bruciore retrosternale la diagnosi alternativa è di pirosi funzionale. In entrambi i casi, il trattamento dovrebbe essere reindirizzato [11].

E' importante notare che i pazienti con esposizione acida severa e alterazioni della mucosa spesso rispondono meglio alla terapia con inibitori di pompa protonica (con il 20-30% di risposta in più) rispetto ai pazienti con NERD e pirosi funzionale con un'esposizione acida normale o solo lievemente aumentata, i quali riferiscono una continua presenza di sintomi anche sotto terapia antiacida. Questo indica che, in genere, la risposta alla terapia antiacida è direttamente proporzionale alla gravità dei sintomi.

La maggior parte dei sintomi nei pazienti con malattia da reflusso che non assumono farmaci antiacidi sono correlati all'insorgenza di reflusso acido. Nei pazienti con NERD (che presentano quindi la tipica sintomatologia da reflusso gastro-esofageo, ma che sono negativi all'endoscopia), soprattutto nel sottogruppo con livelli fisiologici di reflusso acido (pirosi funzionale), la proporzione dei sintomi correlati a reflusso debolmente acido è maggiore rispetto ai pazienti con malattia da reflusso erosiva. In aggiunta, la presenza di gas nel materiale refluito aumenta in maniera significativa la probabilità di percezione dei sintomi; la presenza di ipersensibilità viscerale alla stimolazione esofagea potrebbe spiegare perché i pazienti con NERD rispondono meno alla terapia antiacida. Infine, i nuovi approcci diagnostici e le nuove tecnologie disponibili permettono di valutare ogni aspetto della fisiopatologia della MRGE, incluse le disfunzioni motorie e sensoriali. Queste informazioni potrebbero giocare un ruolo importante nell'indirizzare la futura gestione clinica delle diverse cause responsabili di sintomi e disturbi dei singoli pazienti [25].

DIFFERENZE TRA NERD E VH

Circa il 60-70% dei pazienti affetti da MRGE rientra nella categoria dei NERD. Grazie alla pH-impedenziometria, essi possono essere inseriti in tre differenti sottocategorie: 1) pazienti con NERD, che presentano un'anomala esposizione all'acido, ma assenza di lesioni visibili all'endoscopia. Più frequentemente questi soggetti sono di sesso maschile, presentano un BMI elevato e hanno una maggiore frequenza di ernia iatale; 2) pazienti con ipersensibilità viscerale (VH), nei quali l'esposizione all'acido e il numero di reflussi sono normali e non vi è evidenza di lesioni all'endoscopia, ma vi è un'associazione positiva tra i sintomi e gli episodi di reflusso, sia acido che non; inoltre essi presentano una risposta alla terapia con PPI ridotta di circa il 30% rispetto ai soggetti con esofagite erosiva (EO); 3) pazienti con pirosi funzionale (FH), i quali presentano i sintomi tipici della MRGE, in presenza però di esposizione acida fisiologica e in assenza di lesioni all'endoscopia, nonché di associazione tra sintomi e reflussi; anch'essi presentano un'insoddisfacente risposta alla terapia soppressiva acida con PPI. Più frequentemente i soggetti affetti da FH sono di sesso femminile, soffrono della sindrome del colon irritabile, oltre che di patologie della sfera psichiatrica, quali ansia e depressione. La FH, in seguito all'adozione dei nuovi criteri di Roma III, non è più considerata come una sottocategoria della MRGE, ma viene compresa tra i disturbi di tipo funzionale.

1. L'ipersensibilità viscerale (VH)

L'ipersensibilità all'acido si presenta sia in soggetti con EO, sia in quelli con una mucosa esofagea macroscopicamente normale; i fattori che contribuiscono all'aumentata sensibilità esofagea sono un'alterata funzione di barriera mucosa, una up-regulation dei nocicettori periferici e una sensibilizzazione a livello centrale; l'ipersensibilità viscerale gioca un ruolo importante soprattutto nella NERD.

Classicamente, si ritiene che la NERD sia una forma lieve di MRGE che potrebbe progredire col tempo verso una EO; questa teoria è supportata da dati fisiologici, anatomici e istopatologici [49]. Per esempio, nonostante la presenza di esposizione all'acido non sia necessaria per fare diagnosi di EO o di NERD, alcuni studi hanno dimostrato che l'esposizione acida, determinata con la pH-metria delle 24 ore, è anormale solo nel 45% dei pazienti con NERD rispetto al 75% dei pazienti con EO, e che il numero di eventi di reflusso [50] e l'estensione dell'esposizione acida sono significativamente minori nella NERD [51; 52]. Infine, sebbene macroscopicamente normale, usando la cromoendoscopia amplificata con markers istologici, sono state evidenziate delle minime alterazioni mucose nella NERD [53]. L'assunto che l'EO e la NERD rappresentano un unico continuo disturbo è stato tuttavia messo in discussione da studi che dimostrano alcune differenze nelle caratteristiche epidemiologiche, nella risposta allo stesso tipo di trattamento, e probabilmente nella composizione del materiale refluito in termini di acidità e gas [52]; ciò suggerisce che la NERD faccia parte di un'alterazione a sé stante.

Importanti per questa discussione sono i pazienti che presentano una normale esposizione acida esofagea e in cui non è presente una correlazione tra il reflusso e i sintomi, ma nei quali la presentazione clinica è praticamente indistinguibile da quella dei pazienti con MRGE. La relazione tra questi disordini variamente definiti, che si presentano con sintomi relativamente omogenei, segue un gradiente di esposizione acida crescente, dalle alterazioni esofagee funzionali fino all'esofagite erosiva (e probabilmente, ancora oltre, all'esofago di Barrett).

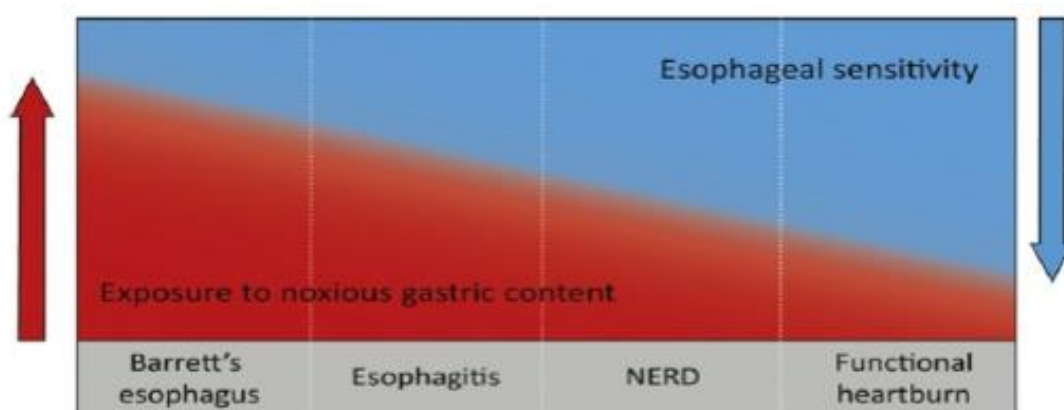


Figura 6 Rappresentazione schematica del presunto contributo dell'esposizione acida e dell'ipersensibilità viscerale nello spettro delle alterazioni esofagee

Tuttavia, se la differente esposizione acida fosse l'unico fattore, questo potrebbe non spiegare perché le caratteristiche cliniche siano pressoché equivalenti in questi gruppi, sia per quanto riguarda la natura, sia per quanto riguarda la severità [54; 55]. Per questo è necessario considerare un ulteriore fattore, il cui contributo alla fisiopatologia di questi disordini

aumenti in maniera inversamente proporzionale rispetto al primo. Sebbene più di un fattore sia in grado di soddisfare questo requisito, quello attualmente più convincente è un fenomeno noto come ipersensibilità viscerale (VH).

L'amplificata percezione delle sensazioni gastrointestinali è chiamata ipersensibilità gastrointestinale ed è comunemente osservata in pazienti con dolore addominale inspiegato (iperalgesia). La VH è ora ritenuta l'elemento caratteristico delle alterazioni gastrointestinali di tipo funzionale [56].

Numerosi studi sull'uomo [57; 58] ed estesi esperimenti su animali [59; 60] hanno svelato il rispettivo contributo di meccanismi organici e psicologici nella patogenesi della VH nelle malattie gastrointestinali di tipo funzionale.

In base ad alcuni studi sui visceri e numerosi studi sul sistema nervoso somatico periferico, è chiaro che differenti meccanismi intervengono in vario grado nella patogenesi della VH. Questi includono la sensibilizzazione dei nervi periferici (sensibilizzazione periferica), la sensibilizzazione dei neuroni delle corna dorsali del midollo spinale (sensibilizzazione centrale) e il così detto 'sistema psiconeuroimmune', in grado di influenzare le funzioni cognitive ed emozionali mediate da connessioni neuronali discendenti e dall'asse ipotalamo-ipofisario, specialmente in risposta allo stress [61].

Approfonditi studi sul sistema nervoso periferico somatico hanno delucidato molti dei complessi eventi molecolari responsabili della VH. In risposta ad un eccessivo stimolo nocivo o a un danno tissutale, vengono

rilasciati numerosi mediatori infiammatori, quali ATP, bradichinina, prostaglandine, istamina e ioni H^+ (nel tratto gastrointestinale, il rilascio di serotonina dal polo basolaterale delle cellule enterocromaffini è altrettanto importante). Questi mediatori hanno l'effetto comune di ridurre la soglia di trasduzione di una varietà di canali cationici, i quali sono espressi nei terminali periferici di piccoli neuroni sensibili al danno, mielinizzati (fibre A e δ) o non mielinizzati (fibre C), i quali mediano il dolore (nocicettori). Il percorso finale comune verso il potenziale d'azione, e quindi verso il dolore, è l'attivazione dei canali del sodio [62; 63]. Questi canali sono attivati in maniera sequenziale da una riduzione nel potenziale di membrana, che è fortemente negativo (questo potenziale è mantenuto da una pompa che espelle il sodio), nel terminale del nervo periferico; ciò può pertanto avvenire in presenza di una fuoriuscita di cationi in risposta ai mediatori infiammatori, incluso il basso pH. E' possibile che, in aggiunta all'acido, anche le proteasi possano condurre al fenomeno della VH; in effetti, la presenza di pepsina è stata dimostrata nel materiale refluito di alcuni pazienti [64].

Questa sensibilizzazione periferica porta al fenomeno dell'iperalgesia primaria (ipersensibilità al dolore nel sito del danno). Attivazioni ripetitive dei potenziali d'azione dalla periferia determinano anche le cascate dei segnali intracellulari nei neuroni delle corna dorsali del midollo spinale. Ciò porta a risposte amplificate sia nei confronti di stimoli nocivi (iperalgesia), sia nei confronti di stimoli innocui (allodinia) [65]. Il fenomeno è scatenato dal rilascio presinaptico di numerosi neurotrasmettitori, inclusi la sostanza

P, il glutammato e il fattore neurotrofico cerebrale (BDNF, Brain-Derived Neurotrophic Factor). Agendo sui loro rispettivi recettori, essi portano ad un incremento intracellulare del calcio e all'attivazione calcio-dipendente della protein-chinasi A e C. Ciò, a sua volta, porta ad una fosforilazione dei recettori NMDA (N-metil-D-aspartato), con una modifica nella cinetica dei recettori, i quali riducono il loro blocco voltaggio-dipendente nei confronti del magnesio, incrementando così la risposta al glutammato. La sensibilizzazione centrale ha effetti anche sui neuroni spinali adiacenti, portando ad un reclutamento di nocicettori precedentemente 'silenti' e alla ipersensibilizzazione di aree (sia somatiche che viscerali) lontane dal sito della sensibilizzazione periferica (iperalgesia secondaria).

Storicamente, il ruolo dello stress psicologico ed emozionale nella fisiopatologia delle alterazioni gastrointestinali è sempre stato considerato come separato dalla biologia del disturbo e classificato tra le comorbidità psichiatriche. Tuttavia, nell'ultima decade molta importanza è stata attribuita anche alle interazioni tra cervello e addome, e ai cambiamenti fisiologici e biochimici che intervengono durante stress fisici e psicologici, sia acuti che cronici. In questi pazienti anche minimi stimoli fisiologici negativi possono essere interpretati come sintomi gravi. Risulta chiaro che lo stress e le sue comorbidità, quali l'ansia, giocano un ruolo importante nella generazione dei sintomi nei pazienti con MRGE, ma soprattutto in quelli con NERD [66; 67].

Numerosi studi hanno affrontato la questione se la sensibilizzazione periferica, definita come una riduzione della soglia del dolore, dovuta ad

una stimolazione intraluminale nel sito di esposizione acida, sia presente nei pazienti con MRGE. Gli stimoli attualmente disponibili sono meccanici (solitamente palloncini distensibili), elettrici, termici (sia caldi che freddi) e chimici. Alcuni studi hanno selezionato in maniera specifica pazienti con MRGE, definiti sulla base di risultati endoscopici. Comparando tali pazienti con altri affetti da EO, è stata dimostrata o una responsività praticamente identica in entrambi all'infusione acida, o un'aumentata sensibilità all'acido. Questi risultati sono in accordo con un recente studio basato sulla pH-impedenziometria associata a manometria, che suggerisce che i pazienti con NERD sono più sensibili ad un reflusso meno acido.

Indagini svolte su volontari sani hanno dimostrato, mediante sensibilizzazione per mezzo di esposizione acida dell'esofago distale, che la VH può presentarsi anche con una mucosa integra.

Evidentemente, l'apparato sensoriale in grado di percepire l'esposizione acida (e di diventare sensibilizzato a questa) si trova nelle afferenze viscerali, incluse quelle dell'esofago. In ogni area del tratto gastrointestinale, i terminali neuronali, sia intrinseci che estrinseci, sono localizzati nella lamina propria o negli strati più profondi; questi non penetrano l'epitelio, essendo in tal modo protetti dall'ambiente ostile del lume esofageo. L'ulcerazione/erosione dell'epitelio che caratterizza l'EO può esporre direttamente queste terminazioni agli ioni H^+ , ma questo non è ciò che avviene nella NERD. L'esofago è rivestito da un epitelio squamoso stratificato non cheratinizzato relativamente spesso (20-30 strati); è probabile che un basso grado di infiammazione giochi un ruolo

nel meccanismo della sensibilizzazione all'acido nella NERD: essa, mediante la dilatazione degli spazi intercellulari, permette un certo grado di penetrazione acida. Rispetto all'infiammazione, studi sulle citochine e sulle biopsie rivelano che i pazienti con NERD potrebbero avere delle lievi alterazioni infiammatorie della mucosa non visibili all'endoscopia.

2. Alterazioni esofagee funzionali: la piroisi funzionale (FH)

I disturbi esofagei di tipo funzionale rappresentano dei processi accompagnati dai tipici sintomi esofagei (pirosi, dolore toracico, disfagia, globo), ma che non possono essere spiegati da alterazioni strutturali, da disturbi motori dati da alterazioni istopatologiche o da MRGE [68]. La MRGE è la diagnosi di prima scelta quando è presente un'esofagite da reflusso o un'eccessiva esposizione acida dell'esofago, oppure quando i sintomi sono strettamente correlati a eventi di reflusso acido o rispondono alla terapia anti-reflusso. Un unico, ben definito meccanismo patogenetico non è disponibile per ognuna di queste alterazioni; per alcune sono state invocate combinazioni di anomalie sensoriali e motorie coinvolgenti alterazioni neuronali, sia centrali che periferiche. Il trattamento rimane empirico, sebbene l'efficacia di numerosi interventi sia stata stabilita in caso di dolore toracico di tipo funzionale. Spesso, una volta che i fattori locali responsabili dei sintomi sono stati eliminati, sono richiesti approcci terapeutici in grado di modularne la percezione o l'amplificazione centrale.

Le ricerche future dovranno determinare i meccanismi fondamentali responsabili dei sintomi, lo sviluppo di nuove strategie di trattamento e la definizione di tecniche diagnostiche e trattamenti con il miglior rapporto costo-beneficio.

Le alterazioni esofagee funzionali sono caratterizzate da una sintomatologia cronica di tipo esofageo, non sostenuta da alterazioni strutturali o metaboliche. Sebbene i meccanismi responsabili di queste alterazioni rimangano poco compresi, probabilmente una combinazione di fattori psicologici e psicosociali contribuisce all'insorgenza e all'aumento dei sintomi fino ad un livello clinicamente significativo. Per la diagnosi sono richiesti numerosi e uniformi criteri: 1) l'esclusione di alterazioni strutturali o metaboliche potenzialmente responsabili dei sintomi; 2) la presenza della sintomatologia per almeno tre mesi, con insorgenza almeno sei mesi prima della diagnosi stessa; 3) l'esclusione della MRGE come causa dei sintomi; 4) l'alterazione motoria con basi istopatologiche note (es. acalasia e sclerodermia) non deve essere la principale fonte dei sintomi.

La piroisi funzionale (FH) è definita come un bruciore retrosternale in assenza di MRGE.

Studi che utilizzano sia l'endoscopia che il monitoraggio ambulatoriale del pH per evidenziare in maniera oggettiva la presenza di MRGE, indicano che la FH è presente in meno del 10% dei pazienti che si recano dal gastroenterologo a causa del bruciore retrosternale [50].

Per poter diagnosticare la FH, devono essere presenti tutti i seguenti criteri:

1. bruciore, fastidio o dolore retrosternale;
2. nessuna evidenza che la causa dei sintomi sia la MRGE;
3. assenza di alterazioni motorie esofagee.

L'insorgenza dei sintomi deve precedere di almeno sei mesi la diagnosi; questi devono inoltre essere presenti per almeno tre mesi.

Un essenziale primo passo per evitare di trascurare le cause extra-esofagee dei sintomi è di chiarire la natura dei sintomi stessi. Un'addizionale valutazione primaria è orientata verso l'esclusione o la conferma della presenza di MRGE. Un'endoscopia che non evidenzi la presenza di esofagite non è sufficiente in questo senso, specialmente nei pazienti valutati in corso di terapia anti-reflusso o in quelli che l'abbiano interrotta da poco. Il monitoraggio ambulatoriale del pH è in grado di classificare meglio i pazienti che hanno riscontri normali alla valutazione endoscopica, inclusi quelli in cui i sintomi persistono nonostante la terapia. Una risposta positiva a un breve ciclo terapeutico con alte dosi di PPI non è specifica [69], ma la mancanza di risposta ha probabilmente un alto valore predittivo negativo nei confronti della MRGE.

Come precisato in precedenza, la principale teoria patogenetica per la FH è quella di un'aumentata percezione viscerale (ipersensibilità viscerale, VH). In alcuni casi, un'aumentata sensibilità al reflusso, con lievi alterazioni del pH dai valori normali, può essere responsabile della sintomatologia.

Un possibile esempio di percorso diagnostico per la FH è il seguente:

bruciore retrosternale senza alterazioni all'endoscopia → normale tempo di esposizione acida esofagea e normale numero di reflussi → assente associazione tra sintomi e reflusso → assenza di risposta soddisfacente alla terapia con PPI → diagnosi di pirosi funzionale.

Una maggiore percezione dei sintomi nei pazienti con FH può essere influenzata dallo stato psicologico del paziente. Così, i fattori psicologici potrebbero partecipare alla percezione del bruciore retrosternale nei casi in cui l'evidenza di uno stimolo nocivo sull'esofago sia limitata. I pazienti nei quali la pirosi non è correlata a eventi di reflusso acido negli studi ambulatoriali con pH-metria mostrano uno stato ansioso ed elevati livelli di somatizzazione, così come un basso supporto sociale, rispetto a quelli con sintomatologia provocata dal reflusso [70].

I sintomi persistenti di FH potrebbero rispondere a basse dosi di triciclici o ad altri antidepressivi, oppure a terapie psicologiche; non sono però al momento disponibili trials in grado di dimostrarne l'efficacia.

STUDIO CLINICO

1. Background

Recentemente, numerosi studi hanno dimostrato che i valori basali di impedenza durante la registrazione con pH-impedenziometria multicanale delle 24 ore si modificano in base all'esposizione acida della mucosa esofagea.

In uno dei primi studi sperimentali, Farrè e coll. [71] hanno dimostrato che l'esposizione della mucosa esofagea all'infusione acida provoca una caduta dell'impedenza; al contempo, al termine dell'infusione stessa, si osserva un valore di impedenza basale ridotto rispetto al valore iniziale.

Un recente lavoro eseguito dal gruppo di Pisa del Prof. Marchi ha confermato che nei soggetti con esposizione acida fisiologica, ma con presenza di sintomi correlati al reflusso, i valori di impedenza basale risultano più bassi rispetto a quelli dei volontari sani [72].

Molti studi hanno dimostrato inoltre che l'estensione prossimale dei reflussi sembra avere importanza non solo come marker alternativo di reflusso, ma anche e soprattutto come indicatore del volume del refluito; essa sembra anche essere associata ad un'aumentata percezione del sintomo stesso [73]. Tale condizione di ipersensibilità a livello dell'esofago prossimale sembra particolarmente evidente nei pazienti con NERD.

Come evidenziato sopra, livelli di impedenza basale più bassi corrispondono probabilmente ad una ridotta integrità della mucosa e ad una conseguente maggiore sensibilità al reflusso acido.

Lo scopo del presente studio di tesi è quello di valutare e comparare i valori basali di impedenza a livello dei canali posti a 3 cm e a 17 cm dal LES, in pazienti con pirosi e/o rigurgito che non mostrano lesioni all'endoscopia e con presenza di alterata esposizione esofagea all'acido (NERD), rispetto ad un gruppo di pazienti con identiche caratteristiche sintomatiche ed endoscopiche, ma con esposizione all'acido normale e assenza di correlazione fra sintomi e reflussi (FH).

2. Pazienti e Metodi

Pazienti.

In un periodo della durata di dieci mesi durante il 2014, sono stati arruolati 72 pazienti con pirosi e/o rigurgito e negatività alla esofago-gastro-duodenoscopia (EGDS). Tutti i pazienti, previa sospensione da almeno 20-30 giorni di eventuale terapia con PPI, sono stati sottoposti a manometria esofagea e MII-pH.

Per ogni paziente sono state raccolte le seguenti informazioni: caratteristiche demografiche (età, sesso, BMI); sintomo predominante (definito come il sintomo più fastidioso durante le 24 ore); tempo di esposizione acida patologica (AET); numero di episodi di reflusso indentificati mediante MII; impedenza basale (BI) a livello del canale posto a 3 cm dal LES (z1) e di quello posto a 17 cm dal LES (z6). I valori basali

di impedenza sono stati calcolati durante le ore notturne, in quanto in tale periodo essi sono più stabili.

I criteri di inclusione sono stati: età maggiore di 18 anni; presenza di sintomi correlati a MRGE da almeno sei mesi; presenza del sintomo pirosi ed, eventualmente, di altri sintomi MRGE-correlati; presenza di almeno tre sintomi durante le 24 ore di registrazione.

I criteri di esclusione sono stati: pazienti con pregressa storia di chirurgia addominale o toracica; presenza di disordini primitivi della motilità esofagea (acalasia o disturbi da ipercontrattilità); pazienti con pregressa diagnosi di neoplasia a carico del tratto gastrointestinale.

Manometria esofagea.

Tutti i pazienti sono stati sottoposti a manometria esofagea, la quale è stata utilizzata al fine di determinare la distanza del bordo superiore del LES dalle narici e di escludere la presenza di anomalie della peristalsi. L'esame è stato eseguito con un sondino del diametro di 4.5 mm ed 8 canali, perfusi con acqua bi-distillata (Dyno 2000® Menfis – Biomedica – Bologna). La presenza della peristalsi esofagea e della fase di rilassamento del LES sono state valutate mediante dieci deglutizioni di un bolo di 5 cc di acqua. L'ampiezza e la durata delle onde sono state misurate rispettivamente a 5, 10, 15 e 20 cm dal LES. Le pressioni massima e media del LES sono state stimate mediante la tecnica del “pull-through”.

pH-Impedenziometria multicanale delle 24 ore.

La pH-impedenziometria multicanale delle 24 ore (MII-pH) è stata effettuata mediante catetere in polivinile (Sandhill Scientific Inc. - Highland Ranch – CO). La misura dell'impedenza è stata eseguita mediante elettrodi adiacenti e accoppiati, definiti come unità di calcolo dell'impedenza. Il catetere per il calcolo dell'impedenza è stato posizionato con il sensore di pH posto a 5 cm dal margine superiore del LES, mentre i sensori di MII sono stati posti rispettivamente a 3, 5, 7, 9, 15 e 17 cm dal LES.

A tutti i pazienti è stato raccomandato di consumare almeno tre pasti (colazione alle ore 8, pranzo alle ore 13 e cena alle ore 20) secondo uno schema di dieta mediterranea analogo a quello utilizzato per la registrazione dei dati di normalità [74], senza consumare alcol e/o caffè durante le 24 ore, in modo da ridurre la variabilità inter-paziente secondaria allo stile di vita. Tutti i pazienti sono stati invitati ad indicare l'inizio e la fine di ogni pasto su un apposito diario e, mediante lo specifico tasto di segnalazione, sul datalogger. Tutti i pazienti dovevano rimanere in posizione ortostatica per la maggior parte del tempo, riposare per non più di otto ore e seguire uno stile di vita il più possibile simile a quello usuale. Tutti i pazienti che hanno eseguito l'esame hanno segnalato la presenza dei sintomi occorsi durante la giornata sull'apposito diario e sul datalogger. Ogni tracciato di MII-pH è stato analizzato manualmente, utilizzando finestre di analisi di cinque minuti. I reflussi sono stati indicati sulla base delle loro caratteristiche chimiche in: reflussi acidi (nadir $\text{pH} < 4$),

debolmente-acidi (pH 4-7) e debolmente alcalini (pH>7). Inoltre, sono stati classificati sulla base delle loro caratteristiche fisiche in: reflussi liquidi (caduta dell'impedenza in almeno due canali successivi, con andamento retrogrado), reflussi misti (presenza di uno spike gassoso all'interno della caduta di impedenza in due canali successivi), reflussi gassosi (presenza di spike positivo dell'impedenza in tutti i canali). Sono stati definiti prossimali i reflussi che raggiungevano gli elettrodi posti a 15 cm dal LES (z5).

La correlazione fra sintomi e reflussi è stata definita sulla base della presenza dell'evento sintomatico all'interno di una finestra di due minuti (per il calcolo del SAP) o di cinque minuti (per il calcolo del SI) rispetto all'evento di reflusso registrato. In ciascun soggetto, i sintomi sono stati definiti come correlati agli eventi di reflusso in caso di positività contemporanea sia del valore di SAP che del valore di SI.

Calcolo dell'impedenza basale.

I livelli basali di impedenza sono stati calcolati mediante l'utilizzo del segnale derivante dal canale posto a 3 cm dal LES (z1) e da quello derivante dal canale posto a 17 cm (z6) dallo stesso durante il periodo di riposo notturno. Il valore basale di impedenza deriva dal flusso di corrente elettrica che i sensori registrano quando l'esofago torna nella condizione di cavità virtuale, favorendo il contatto della mucosa con gli elettrodi stessi. È stato scelto di eseguire la registrazione dei valori durante il periodo di

riposo notturno, poiché tale periodo è meno influenzato dalla presenza di atti deglutitori.

In un precedente lavoro, il gruppo del Prof. Marchi ha dimostrato che il calcolo eseguito con tre campionamenti durante le ore notturne, correlava strettamente con il calcolo del valore di impedenza di almeno sei ore nello stesso periodo ($p < 0.001$; ICC=0,99; CV=3,8%) [72]. È stata quindi calcolata l'impedenza basale mediante tre campionamenti, della durata di dieci minuti ciascuno, fatti rispettivamente all'una, alle due e alle tre del mattino. Ogni campionamento è stato fatto considerando un periodo di tempo in cui il valore di impedenza risultava sufficientemente stabile, escludendo occasionali eventi di deglutizione o di reflusso.

Suddivisione in Sottogruppi.

I pazienti sono stati suddivisi in due sottogruppi come segue:

1. gruppo NERD: caratterizzato dalla presenza di AET alterato e/o numero di reflussi alterato, indipendentemente dalla positività degli indici di correlazione sintomo-reflusso (SI e SAP);
2. gruppo FH: caratterizzato dalla presenza di AET normale e numero di reflussi normale, dalla totale negatività dei parametri di correlazione sintomatica SI e SAP, oltreché dall'assenza di beneficio in seguito ad una precedente terapia con PPI (riduzione sintomatica inferiore al 50% durante la fase di trattamento).

3. Analisi Statistica

Le variabili continue sono espresse come media \pm DS. Le differenze fra i parametri registrati inerenti le caratteristiche epidemiologiche sono state valutate con il test esatto di Fischer. Le differenze dei valori di impedenza basale tra i vari sottogruppi è stata valutata mediante analisi della varianza (ANOVA). Un valore di $p < 0.05$ è stato considerato statisticamente significativo.

4. Risultati

Da un numero totale di 72 soggetti, sono stati arruolati per lo studio in oggetto circa 50 pazienti. I 22 soggetti esclusi dallo studio non presentavano le caratteristiche né dell'uno né dell'altro gruppo. Infatti, 13 presentavano una correlazione sintomatica con i reflussi (SAP e SI positivi), circa sei presentavano solo uno dei due indici di correlazione positivi e, infine, tre sono stati esclusi in quanto non avevano registrato i sintomi durante l'analisi delle 24 ore.

Il rapporto maschi/femmine era di 10/15 nel gruppo NERD e di 7/18 nel gruppo FH. L'età media dei pazienti era di 51.3 ± 12.4 anni nel gruppo NERD e di 49.3 ± 9.7 anni in quello FH. Non vi erano differenze statisticamente significative inerenti le abitudini voluttuarie, il BMI, i valori dell'ampiezza media delle onde peristaltiche, piuttosto che il tono basale

del LES. La prevalenza di ernia iatale era maggiore nel gruppo NERD (22/25: 88%) rispetto a quello FH (10/25: 40%) ($p<0.05$).

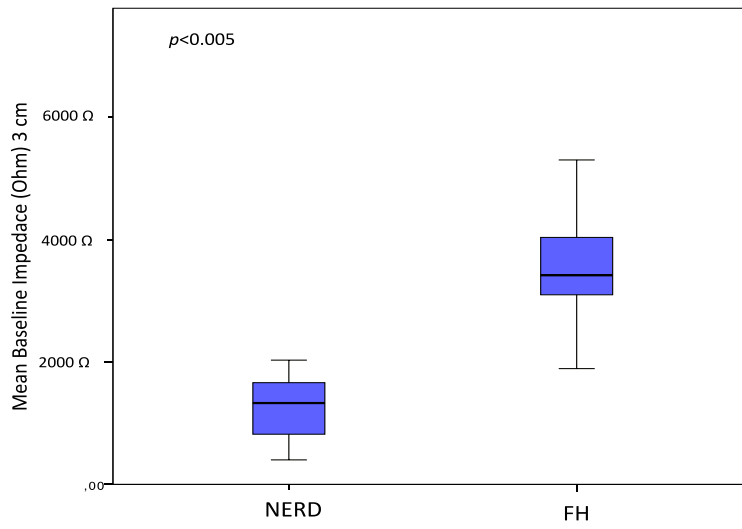
Il valore medio di AET era più elevato nel gruppo dei pazienti NERD (5.4 ± 0.4) rispetto al gruppo di pazienti FH (0.4 ± 0.4) ($p<0.05$). Il sottogruppo dei pazienti NERD presentava inoltre un valore più elevato del numero totale di reflussi (73.8 ± 39.8) rispetto a quanto registrato nel gruppo FH (22.8 ± 10.4) ($p<0.05$).

I valori basali di impedenza sono risultati significativamente più bassi nei soggetti NERD rispetto ai soggetti con FH, sia a livello dei canali distali (1278.4 ± 521.5 vs 3530.9 ± 866.9) ($p<0.05$) che a livello di quelli prossimali (1801.6 ± 606.9 vs 4172.1 ± 987.9) ($p<0.05$).

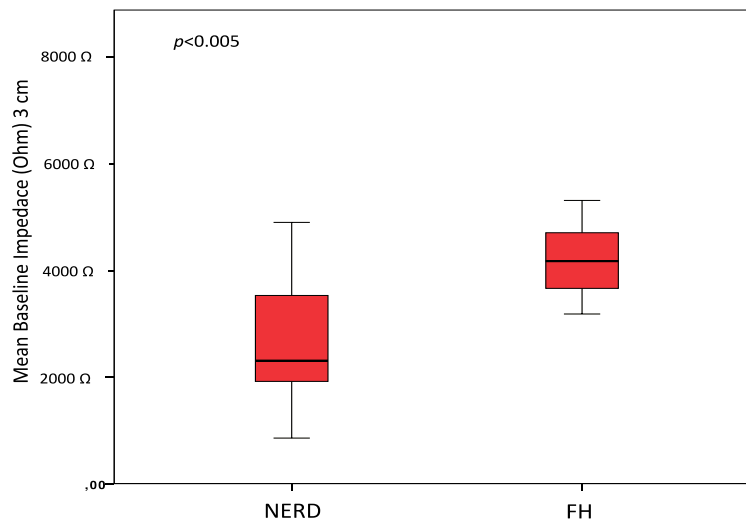
I valori distali risultavano significativamente più bassi rispetto ai valori prossimali nel gruppo dei pazienti NERD ($p<0.05$), ma non nel gruppo FH ($p=0.106$).

Una sottoanalisi, eseguita solo nel sottogruppo NERD, ha evidenziato che 13/25 di essi (52%) presentava un numero elevato (>30) di reflussi prossimali. Dall'analisi dei valori d'impedenza a livello dei canali prossimali, si è evidenziato un valore di impedenza più basso nei soggetti con reflusso prossimale (1527.9 ± 366.2) rispetto ai pazienti con un numero inferiore di tale tipologia di reflussi (2093.2 ± 533.8) ($p<0.05$).

Infine, l'analisi del rapporto tra i valori di impedenza e quelli di esposizione al reflusso acido ha dimostrato che esiste una relazione inversa fra il tempo di esposizione all'acido e il valore basale di impedenza per il singolo canale ($r=-0.769$; $p<0.001$).



(a)



(b)

Figura 7 Differenze tra i livelli di impedenza basale nei pazienti con NERD e FH, valutati a 3 cm (a) e a 17 cm (b) dal LES

5. Discussione

Lo studio realizzato in occasione di questa tesi di laurea è il primo lavoro scientifico che valuta l'impatto dei differenti valori di impedenza nei pazienti con NERD rispetto a quelli con FH.

E' stato evidenziato che i valori basali di impedenza sono più bassi nei pazienti con NERD rispetto ai quelli con FH ($p < 0.05$), e che tale rapporto sembra essere prevalentemente dipendente dal tempo di esposizione esofagea all'acido.

Uno dei primi autori ad aver evidenziato questa correlazione è stato il belga Farré [71], il quale, dopo aver esposto la mucosa esofagea all'acido (soluzione 0.1 N di HCl) per 15 minuti, ha dimostrato che si osservava una riduzione parallela del pH e dell'impedenza durante la fase di infusione. La reale scoperta è stata che, al termine dell'infusione, i valori di pH si ripristinavano a valori superiori a 4 in pochissimo tempo e che, al contrario, i valori di impedenza rimanevano più bassi rispetto al valore di partenza. Questo esperimento su cavia ha portato a dedurre che ci sia un rapporto inverso fra il tempo di esposizione all'acido e il valore di impedenza che si registra a seguito dell'esposizione.

In seguito, un lavoro del gruppo olandese di Bredenoord A. e Smout A.J. ha dimostrato che i soggetti con esposizione esofagea ad un pH patologico presentavano valori di impedenza più bassi rispetto a coloro che riferivano i sintomi, ma avevano un valore di esposizione all'acido normale [75].

Anche il gruppo di Pisa del prof. Marchi ha dimostrato che i soggetti con diagnosi di FH che rispondevano alla terapia con inibitori di pompa protonica avevano dei valori di impedenza basale più bassi rispetto ai soggetti con la stessa diagnosi, ma che non presentavano alcuna risposta alla terapia con PPI [72].

Un ulteriore lavoro dello stesso gruppo di Pisa ha dimostrato che i soggetti con FH che rispondono alla terapia presentano gli stessi valori di impedenza basale dei pazienti che invece hanno una diagnosi di VH, ma che in modo anomalo ed inaspettato rispondono alla terapia.

Entrambi questi ultimi lavori avevano dimostrato la presenza di una correlazione inversa fra il reflusso acido e i valori basali di impedenza.

Questo lavoro non si limita a studiare i valori di impedenza nel sito distale, che è più sensibile alla presenza del reflusso, ma esplora l'effetto del reflusso anche nei canali più prossimali, ovvero più lontani (posti a 17 cm dal LES). A tal proposito vi sono ancora pareri discordanti nei differenti studi svolti.

Un recente lavoro di Ribolsi M. [76] ha mostrato che non vi sono differenze di impedenza basale fra i canali distali e quelli prossimali.

Il nostro lavoro ha invece mostrato che questo dato di assenza di differenza è stato confermato solo nei soggetti con FH, ma non in quelli con diagnosi di NERD. Infatti, dalla sottoanalisi dei soggetti NERD è stato possibile evidenziare che coloro che avevano un reflusso prossimale più importante presentavano dei valori di impedenza prossimale più bassi rispetto a coloro che non avevano lo stesso tipo di pattern di reflusso.

Infine, in ultima analisi, questo lavoro ha ulteriormente confermato la presenza di una relazione lineare inversa fra il tempo di esposizione all'acido e i valori basali di impedenza.

Il grande vantaggio clinico di questo lavoro è stato quello di dimostrare che il calcolo dei livelli basali di impedenza è affidabile e che dovrebbe essere esportato nella routine ed utilizzato come ulteriore parametro per differenziare i pazienti con malattia da reflusso gastroesofageo.

Come ovviamente accade per ogni parametro di nuova identificazione, questo dovrà ovviamente essere valutato su studi più numerosi e possibilmente correlato all'outcome terapeutico, per dare ancora più valore clinico al parametro utilizzato.

BIBLIOGRAFIA

1. Vakil N, van Zanten SV, Kahrilas P, Dent J, Jones R. The Montreal definition and classification of gastroesophageal reflux disease: a global evidence-based consensus. *Am J Gastroenterol* 2006;101:1900-1920.
2. Bredenoord A J, Pandolfino J E, Smout A J P M. Gastro-oesophageal reflux disease. *Lancet* 2013;381:1933-1942.
3. Goyal RK, Rattan S. Genesis of basal sphincter pressure: effect of tetrodotoxin on lower esophageal sphincter pressure in opossum in vivo. *Gastroenterology* 1976;71:62-67.
4. Schmidt, Lang, Thews. *Fisiologia Umana* 5^a Edizione Italiana. Idelson-Gnocchi. 2008;863-864.
5. Dent J, El-Serag H B, Wallander M-A, Johansson S. Epidemiology of gastro-oesophageal reflux disease: a systematic review. *Gut* 2005;54:710-717.
6. Locke GR III, Talley NJ, Fett SL, et al. Risk factors associated with symptoms of gastroesophageal reflux. *Am J Med* 1999;106:642-649.
7. Mohammed I, Cherkas LF, Riley SA, et al. Genetic influences in gastro-oesophageal reflux disease: a twin study. *Gut* 2003;52:1085-1089.

8. Isolauri J, Laippala P. Prevalence of symptoms suggestive of gastro-oesophageal reflux disease in an adult population. *Ann Med* 1995;27:67-70.
9. El-Serag HB, Petersen NJ, Carter J, et al. Gastroesophageal reflux among different racial groups in the United States. *Gastroenterology* 2004;126:1692-1699.
10. Orr WC. Review article: sleep-related gastro-oesophageal reflux as a distinct clinical entity. *Aliment Pharmacol Ther* 2010;31:47-56.
11. Galmiche JP, Clouse RE, Balint A, et al. Functional esophageal disorders. *Gastroenterology* 2006;130:1459-1465.
12. Stacher G, Lenglinger J, Bergmann H, et al. Gastric emptying: a contributory factor in gastro-oesophageal reflux activity? *Gut* 2000;47:661-666.
13. Fletcher J, Wirz A, Young J, Vallance R, McColl KE. Unbuffered highly acidic gastric juice exists at the gastroesophageal junction after a meal. *Gastroenterology* 2001;121:775-783.
14. Beaumont H, Bennink RJ, de Jong J, Boeckxstaens GE. The position of the acid pocket as a major risk factor for acidic reflux in healthy subjects and patients with GORD. *Gut* 2010;59:441-451.
15. Pandolfino JE, Zhang Q, Ghosh SK, Post J, Kwiatek M, Kahrilas PJ. Acidity surrounding the squamocolumnar junction in GERD patients: "acid pocket" versus "acid film". *Am J Gastroenterol* 2007;102:2633-2641.

16. Kessing B F, Conchillo J M, Bredenoord A J, Smout A J P M, Masclee A A M. Review article: the clinical relevance of transient lower oesophageal sphincter relaxations in gastro-oesophageal reflux disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2011;33:650-661.
17. Mittal RK, Holloway RH, Penagini R, Blackshaw LA, Dent J. Transient lower esophageal sphincter relaxation. *Gastroenterology* 1995;109:601-610.
18. Mittal RK, Fisher MJ. Electrical and mechanical inhibition of the crural diaphragm during transient relaxation of the lower esophageal sphincter. *Gastroenterology* 1990;99:1265-1268.
19. Altschuler SM, Boyle JT, Nixon TE, Pack AI, Cohen S. Simultaneous reflex inhibition of lower esophageal sphincter and crural diaphragm in cats. *Am J Physiol* 1985;249:G586-591.
20. Poudoux P, Verdier E, Kahrilas PJ. Patterns of esophageal inhibition during swallowing, pharyngeal stimulation, and transient LES relaxation. Lower esophageal sphincter. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2003;284:G242-247.
21. Babaei A, Bhargava V, Korsapati H, Zheng WH, Mittal RK. A unique longitudinal muscle contraction pattern associated with transient lower esophageal sphincter relaxation. *Gastroenterology* 2008;134:1322-1331.
22. Shi G, Pandolfino JE, Joehl RJ, Brasseur JG, Kahrilas PJ. Distinct patterns of oesophageal shortening during primary peristalsis,

- secondary peristalsis and transient lower oesophageal sphincter relaxation. *Neurogastroenterol Motil* 2002;14:505-512.
23. Pandolfino JE, Zhang QG, Ghosh SK, Han A, Boniquit C, Kahrilas PJ. Transient lower esophageal sphincter relaxations and reflux: mechanistic analysis using concurrent fluoroscopy and high-resolution manometry. *Gastroenterology* 2006;131:1725-1733.
24. Dogan I, Bhargava V, Liu J, Mittal RK. Axial stretch: a novel mechanism of the lower esophageal sphincter relaxation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2007;292:G329-334.
25. Fox M. Review article: identifying the causes of reflux events and symptoms – new approaches. *Aliment Pharmacol Ther* 2011;33(Suppl.1):1-71.
26. Johnsson F, Hatlebakk JG, Klintenberg AC, et al. One-week esomeprazole treatment: an effective confirmatory test in patients with suspected gastroesophageal reflux disease. *Scand J Gastroenterol* 2003;38:354-359.
27. Bredenoord AJ, Weusten BL, Smout AJ. Symptom association analysis in ambulatory gastro-oesophageal reflux monitoring. *Gut* 2005;54:1810-1817.
28. Bredenoord A J, Tutuian R, Smout A J P M, Castell D O. Technology Review: Esophageal Impedance Monitoring. *Am J Gastroenterol* 2007;102:187-194.

29. Bredenoord A J, Weusten B L A M, Smout A J P M. Symptom association analysis in ambulatory gastro-oesophageal reflux monitoring. *Gut* 2005;54:1810-1817.
30. Singh M, Lee J, Gupta N, et al. Weight loss can lead to resolution of gastroesophageal reflux disease symptoms: a prospective intervention trial. *Obesity (Silver Spring)* 2012; published online June 25. DOI:10.1038/oby.2012.180.
31. Jacobson BC, Somers SC, Fuchs CS, Kelly CP, Camargo CA Jr. Body-mass index and symptoms of gastroesophageal reflux in women. *N Engl J Med* 2006;354:2340-2348.
32. Kwiatek MA, Roman S, Fareeduddin A, Pandolfino JE, Kahrilas PJ. An alginate-antacid formulation (Gaviscon Double Action Liquid) can eliminate or displace the postprandial 'acid pocket' in symptomatic GERD patients. *Aliment Pharmacol Ther* 2011;34:59-66.
33. Bardhan KD, Muller-Lissner S, Bigard MA, et al, for the European Study Group. Symptomatic gastro-oesophageal reflux disease: double blind controlled study of intermittent treatment with omeprazole or ranitidine. *BMJ* 1999;318:502-507.
34. Kahrilas PJ, Shaheen NJ, Vaezi MF. American Gastroenterological Association Institute technical review on the management of gastroesophageal reflux disease. *Gastroenterology* 2008;135:1392-1413.

35. Tytgat GN, McColl K, Tack J, et al. New algorithm for the treatment of gastro-oesophageal reflux disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2008;27:249-256.
36. Fass R, Murthy U, Hayden CW, et al. Omeprazole 40 mg once a day is equally effective as lansoprazole 30 mg twice a day in symptom control of patients with gastro-oesophageal reflux disease (GERD) who are resistant to conventional-dose lansoprazole therapy: a prospective, randomized, multi-centre study. *Aliment Pharmacol Ther* 2000;14:1595-1603.
37. Kinoshita Y, Hongo M. Efficacy of twice-daily rabeprazole for reflux esophagitis patients refractory to standard once-daily administration of PPI: the Japan-based TWICE study. *Am J Gastroenterol* 2012;107:522-530.
38. Dial S, Delaney JA, Barkun AN, Suissa S. Use of gastric acid-suppressive agents and the risk of community-acquired *Clostridium difficile*-associated disease. *JAMA* 2005;294:2989-2995.
39. Yang YX, Lewis JD, Epstein S, Metz DC. Long-term proton pump inhibitor therapy and risk of hip fracture. *JAMA* 2006;296:2947-2953.
40. Broeren MA, Geerdink EA, Vader HL, van den Wall Bake AW. Hypomagnesemia induced by several proton-pump inhibitors. *Ann Intern Med* 2009;151:755-756.

41. Marcuard SP, Albernaz L, Khazanie PG. Omeprazole therapy causes malabsorption of cyanocobalamin (vitamin B12). *Ann Intern Med* 1994;120:211-215.
42. Reimer C, Sondergaard B, Hilsted L, Bytzer P. Proton-pump inhibitor therapy induces acid-related symptoms in healthy volunteers after withdrawal of therapy. *Gastroenterology* 2009;137:80-87.
43. Nissen R. A simple operation for control of reflux esophagitis. *Schweiz Med Wochenschr* 1956;86 (suppl 20):590-592 (in German).
44. Niebisch S, Fleming FJ, Galey KM, et al. Perioperative risk of laparoscopic fundoplication: safer than previously reported-analysis of the American College of Surgeons national surgical quality improvement program 2005 to 2009. *J Am Coll Surg* 2012;215:61-68.
45. Bredenoord AJ, Smout AJ. Refractory gastrooesophageal reflux disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2008;20:217-223.
46. Khan M, Santana J, Donnellan C, Preston C, Moayyedi P. Medical treatments in the short term management of reflux oesophagitis. *Cochrane Database Syst Rev* 2007;2:CD003244.
47. Weijenborg PW, Cremonini F, Smout AJ, Bredenoord AJ. PPI therapy is equally effective in well-defined non-erosive reflux disease and in reflux esophagitis: a meta-analysis. *Neurogastroenterol Motil* 2012;24:747-e350.

48. El-Serag H, Becher A, Jones R. Systematic review: persistent reflux symptoms on proton pump inhibitor therapy in primary care and community studies. *Aliment Pharmacol Ther* 2010;32:720-737.
49. Knowles C H, Aziz Q. Visceral hypersensitivity in non-erosive reflux disease. *Gut* 2008;57:674-683.
50. Martinez SD, Malagon IB, Garewal HS, et al. Non-erosive reflux disease (NERD)-acid reflux and symptom patterns. *Aliment Pharmacol Ther* 2003;17:537-545.
51. Emerenziani S, Cicala M, Zhang X, et al. Effect of oesophagitis on proximal extent of gastro-oesophageal reflux. *Neurogastroenterol Motil* 2007;19:459-464.
52. Emerenziani S, Sifrim D, Habib FI, et al. Presence of gas in the refluxate enhances reflux perception in non-erosive patients with physiological acid exposure of the oesophagus. *Gut* 2007;doi:10.1136/gut.2007.130104.
53. Kiesslich R, Neurath MF, Galle PR. Chromoendoscopy and magnifying endoscopy in patients with gastroesophageal reflux disease. Useful or negligible? *Dig Dis* 2004;22:142-147.
54. Carlsson R, Dent J, Watts R, et al. Gastro-oesophageal reflux disease in primary care: an international study of different treatment strategies with omeprazole. International GORD Study Group. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1998;10:119-124.
55. Smout AJPM. Endoscopy-negative acid reflux disease. *Aliment Pharmacol Ther* 1997;11:81-85.

56. Grundy D, Al Chaer ED, Aziz Q, et al. Fundamentals of neurogastroenterology: basic science. *Gastroenterology* 2006;130:1391-1411.
57. Drossman DA. Do psychosocial factors define symptom severity and patient status in irritable bowel syndrome? *Am J Med* 1999;107:41S-50S.
58. Spiller RC, Jenkins D, Thornley JP, et al. Increased rectal mucosal enteroendocrine cells, T lymphocytes, and increased gut permeability following acute campylobacter enteritis and in post-dysenteric irritable bowel syndrome. *Gut* 2000;47:804-811.
59. Al-Chaer ED, Kawasaki M, Pasricha PJ. A new model of chronic visceral hypersensitivity in adult rats induced by colon irritation during postnatal development. *Gastroenterology* 2000;119:1276-1285.
60. Bercik P, Wang L, Verdu EF, et al. Visceral hyperalgesia and intestinal dysmotility in a mouse model of postinfective gut dysfunction. *Gastroenterology* 2004;127:179-187.
61. Tache Y, Perdue MH. Role of peripheral CRF signalling pathways in stress-related alterations of gut motility and mucosal function. *Neurogastroenterol Motil* 2004;16(Suppl 1):137-142.
62. Laird JM, Souslova V, Wood JN, et al. Deficits in visceral pain and referred hyperalgesia in Nav1.8 (SNS/PN3)-null mice. *J Neurosci* 2002;22:8352-8356.

63. Wood JN, Boorman JP, Okuse K, et al. Voltage-gated sodium channels and pain pathways. *J Neurobiol* 2004;61:55-71.
64. Vaezi MF, Richter JE. Role of acid and duodenogastroesophageal reflux in gastroesophageal reflux disease. *Gastroenterology* 1996;111:1192-1199.
65. Anand P, Aziz Q, Willert R, et al. Peripheral and central mechanisms of visceral sensitization in man. *Neurogastroenterol Motil* 2007;19(1 Suppl):29-46.
66. Bradley LA, Richter JE, Pulliam TJ, et al. The relationship between stress and symptoms of gastroesophageal reflux: the influence of psychological factors. *Am J Gastroenterol* 1993;88:11-19.
67. Baker LH, Lieberman D, Oehlke M. Psychological distress in patients with gastroesophageal reflux disease. *Am J Gastroenterol* 1995;90:1797-1803.
68. Galmiche J P, Clouse R E, Bálint A, Cook I J, Kahrilas P J, Paterson W G, Smout A J P M. Functional Esophageal Disorders. *Gastroenterology* 2006;130:1459-1465.
69. Numans ME, Lau J, de Wit NJ, Bonis PA. Short-term treatment with proton-pump inhibitors as a test for gastroesophageal reflux disease: a meta-analysis of diagnostic test characteristics. *Ann Intern Med* 2004;140:518-527.
70. Johnston BT, Lewis SA, Collins JS, McFarland RJ, Love AH. Acid perception in gastro-oesophageal reflux disease is dependent on psychosocial factors. *Scand J Gastroenterol* 1995;30:1-5.

71. Farré R, Blondeau K, Clement D, Vicario M, Cardozo L, Vieth M, Mertens V, Pauwels A, Silny J, Jimenez M, Tack J, Sifrim D. Evaluation of oesophageal mucosa integrity by the intraluminal impedance technique. *Gut*. 2011 Jul;60(7):885-892. doi: 10.1136/gut.2010.233049. Epub 2011 Feb 8.
72. Martinucci I, de Bortoli N, Savarino E, Piaggi P, Bellini M, Antonelli A, Savarino V, Frazzoni M, Marchi S. Esophageal baseline impedance levels in patients with pathophysiological characteristics of functional heartburn. *Neurogastroenterol Motil*. 2014 Apr;26(4):546-555. doi: 10.1111/nmo.12299. Epub 2014 Jan 17.
73. Emerenziani S, Sifrim D, Habib FI, Ribolsi M, Guarino MP, Rizzi M, Caviglia R, Petitti T, Cicala M. Presence of gas in the refluxate enhances reflux perception in non-erosive patients with physiological acid exposure of the oesophagus. *Gut*. 2008 Apr;57(4):443-447. Epub 2007 Aug 31.
74. Zentilin P, Iiritano E, Dulbecco P, Bilardi C, Savarino E, De Conca S, Parodi A, Reglioni S, Vigneri S, Savarino V. Normal values of 24-h ambulatory intraluminal impedance combined with pH-metry in subjects eating a Mediterranean diet. *Dig Liver Dis*. 2006 Apr;38(4):226-232. Epub 2006 Feb 15.
75. Kessing BF, Bredenoord AJ, Weijenberg PW, Hemmink GJ, Loots CM, Smout AJ. Esophageal acid exposure decreases intraluminal baseline impedance levels. *Am J Gastroenterol*. 2011

Dec;106(12):2093-2097. doi: 10.1038/ajg.2011.276. Epub 2011 Aug 16.

76. Ribolsi M, Emerenziani S, Borrelli O, Balestrieri P, Addarii MC, Petitti T, Cicala M. Impedance baseline and reflux perception in responder and non-responder non-erosive reflux disease patients. *Scand J Gastroenterol.* 2012 Nov;47(11):1266-1273. doi: 10.3109/00365521.2012.722674. Epub 2012 Sep 7.

RINGRAZIAMENTI

Desidero ringraziare il mio relatore, il Prof. Santino Marchi, per la disponibilità e la collaborazione offertemi durante la stesura di questa tesi.

Un sentito grazie al mio tutor, il Dott. Nicola de Bortoli, che mi ha permesso di approfondire i miei interessi di studio e mi ha fornito un aiuto indispensabile per la realizzazione di questo lavoro.

Un ringraziamento al Dott. Lorenzo Bertani, per la sua gentilezza e per i suoi preziosi consigli.

Silvia